

تعیین شیوع هپاتیت C در بیماران تالاسمی شهرکرد در سال ۷۷

دکتر میترا بصیرت‌نیا،* دکتر سید محمد کاظم حسینی اصل،** دکتر مجید آویزگان،* دکتر فاطمه حیدریان**

چکیده:

اکثریت موارد هپاتیت پس از تزریق خون ناشی از ویروس C یا HCV می‌باشد. کودکان تالاسمی که مکرراً خون دریافت می‌کنند، ریسک بالای عفونت HCV را دارند. به ویژه چون این افراد با پیوند مغز استخوان قابل درمان هستند لذا سیر ازمان HCV سبب مرگ آنان خواهد شد. تعیین شیوع HCV در گروه افراد تالاسمی و تأکید بر این نکته که اینها با دریافت خون، مخزن نسبتاً بزرگی از بیماری هپاتیت C در جامعه هستند. ۱۱۳ بیمار تالاسمی مورد مطالعه قرار گرفتند و تستهای AntiHCV و آلانین ترانسفراز (ALT) روی نمونه‌ها انجام گرفت و در افرادی که AntiHCV مثبت بودند برای رد موارد مثبت کاذب تست RIBA انجام شد. شیوع HCV در مقطع مطالعه ۲۳٪ بود. نسبت مرد به زن برابر ۱/۳: ۱/۳: M:F بود که ۵۷/۶٪ مرد بودند. با آزمون کای دو و آزمون فیشر، بین شاخصهای سن و تعداد واحد خون دریافتی و میزان ALT از یک سو و ابتلاء به هپاتیت C (در دو گروه مبتلا و غیر مبتلا) اختلاف معنی‌داری با $P < 0/01$ بدست آمد. میزان آلودگی بیماران این مطالعه در طیف آلودگی ذکر شده در کتب رفرنس قرار دارد ولی در کل از برخی از مطالعات میزان آلودگی کمتر (تایوان و ایتالیا) و از برخی دیگر بیشتر می‌باشد. همچنین مشابه برخی مطالعات بین سن، تعداد واحد خون دریافتی و میزان ALT با گرفتاری HCV اختلاف معنی‌داری دیده شد.

واژه‌های کلیدی: هپاتیت C، تالاسمی

مقدمه:

بالینی هپاتیت C بسیار متغیر است. بیش از نیمی از کودکان به سمت هپاتیت مزمن سیر می‌کنند ولی عملکرد کبدی آنها معمولاً نرمال است (۱۴،۵). در کودکان تالاسمی که مکرراً خون دریافت می‌کنند ریسک بالای عفونت با ویروس C را دارند و از آنجا که با پیوند مغز استخوان بیماران تالاسمی قابل درمان هستند، هپاتیت مزمن ناشی از ویروس C در آنها بسیار حائز اهمیت است (۱۲).

برآورد کلی شیوع هپاتیت C در جمعیت عمومی

ویروس هپاتیت C (HCV) که قبلاً جزئی از گروه ویروسهای non-A, non-B hepatitis virus نامگذاری شده بود یک ویروس RNA دار و حاوی ۹۵۰۰ نوکلئوتید و متعلق به خانواده Flaviviruses می‌باشد (۸). هپاتیت C مهم‌ترین بیماری کبدی در جهان می‌باشد (۸،۷). این بیماری در کودکان ظاهراً سالم نادر است (۴) و شایع‌ترین علت هپاتیت متعاقب دریافت خون می‌باشد (۹،۶،۳)، به طوری که ۹۰ درصد هپاتیت‌های متعاقب تزریق خون را به خود اختصاص داده است (۸). سیر

*استادیار گروه اطفال - دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد

**استادیار گروه داخلی - دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد

†استادیار گروه عفونی - دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد

‡دکترای پزشکی - دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد

RIBA نسل سوم باکیت آزمایشگاهی Ganelabs-Diagnostic متعلق به کشور سنگاپور انجام شد.

اصول و نحوه انجام تست RIBA:

اساس این تست استفاده از نوارهای پلاستیکی پوشیده شده از باندهای آنتی ژنی اختصاصی در تست الایزا می باشد. تست RIBA نسل ۱ شامل نوارهای نیتروسلولز می باشد که حاوی باندهای آنتی ژنی ۱-۱-۵ که توسط E.coli تولید شده، باند آنتی ژنی c100-3 که توسط مخمر تولید شده و باند SOD (پروتئین کاربرد) و باندهایی از Low IgG و Mod IgG می باشد. در این تست نمونه، وقتی واکنش داده محسوب می شود که با هر دو باند آنتی ژنی (c100-3, 5-1-1) به همان شدت یا بیشتر از باند Low IgG واکنش انجام شده باشد. RIBA نسل ۲ حاوی باندهای آنتی ژنی ۱-۱-۵ از E.coli و c22-3, c100-3 از سلولهای مخمری و c33c و SOD می باشد. یک نمونه وقتی مثبت محسوب می شود که واکنش با ۲ یا بیشتر از باندهای مربوط به حداقل ۲ ناحیه مختلف ژنی به اندازه مساوی یا بیشتر از باند Weak IgG control انجام شده باشد و الزاماً واکنشها با ناحیه SOD انجام نشده باشد. به نمونه هایی که واکنش فقط در سطح یک ناحیه ژنومی (علی رغم باندهای مختلف مثلاً 5-1-1 و c100-3 که مربوط به ناحیه NS4 می باشند) انجام شده باشد اینترمدیت یا حد واسطه اطلاق می گردد.

در تست RIBA نسل سوم باند 5-1-1 حذف شده و باند NS5 اضافه می شود و در این تست باندهای c100-3 در c22-3 پپتیدهای ساختگی می باشند، در حالی که NS5 و c33c پروتئینهای نو ترکیب recombinant هستند. این پپتیدها طوری طراحی شده اند که واکنشهای متقاطع غیر اختصاصی را حذف می کنند.

توسط تست RIBA آنتی بادیهای اختصاصی را از واکنشها و آنتی بادیهای غیر اختصاصی تمیز می دهیم

مردم مشکل است بدین لحاظ اغلب مطالعات بر روی گروههای انتخاب شده از نظر خطر پایین یا بالای ابتلاء به هپاتیت C صورت گرفته است (۱۱). در بین خون دهنندگان کم خطر در آمریکا شیوع هپاتیت C حدود ۰/۶ درصد است. البته این اعداد نسبت به مناطق جغرافیایی مختلف متغیر است و از ۰/۳ درصد در کانادا و اروپای شمالی تا ۱/۵ درصد در ژاپن و اروپای جنوبی گزارش می شود. در گروههای پر خطر مانند مبتلایان به هموفیلی و تالاسمی شیوع آن بالغ بر ۷۰-۶۰٪ در آمریکا گزارش می شود (۱۱). هدف از این مطالعه تعیین شیوع هپاتیت C در گروهی از بیماران پر خطر مانند تالاسمی می باشد. زیرا بیماران تالاسمی به علت دریافت خونهای مکرر مخزن نسبتاً بزرگی از بیماران مبتلا به هپاتیت C در جامعه می باشند.

مواد و روشها:

۱۱۳ بیمار تالاسمی که حداقل ماهی یک بار جهت دریافت خون به بخش تالاسمی مراجعه می کردند در دو مرحله مورد مطالعه قرار گرفتند.

در مرحله اول از کل بیماران در روزهایی که جهت دریافت خون مراجعه می کردند نمونه گیری انجام می شد و سرم بیمار جدا گردید. سرم به دو قسمت تقسیم شد و یکی از نمونه ها در دمای یخچال و نمونه دیگر در 20°C قرار گرفتند. بر روی نمونه ای که در یخچال نگهداری شد تست ALT توسط دستگاه Auto Analyzer انجام شد. نمونه های فریز شده در داخل cold box با دمای 4°C به سازمان انتقال خون تهران برده شد و تست AntiHCV با روش الایزا نسل سوم (۱۷)، باکیت آزمایشگاهی Avicenna medical center به شرکت متعلق به کشور روسیه انجام گرفت.

مرحله دوم تمام بیمارانی که تست AntiHCV آنها در مرحله اول مثبت گزارش شده بود خونگیری مجدد شده و سرم آنها فریز گردید. سپس بر روی این نمونه ها تست

جدول شماره ۱: توزیع فراوانی مطلق و نسبی بیماران تالاسمی در دو گروه AntiHCV مثبت و منفی بر حسب جنس

جنس	مرد	زن	جمع
گروه	تعداد	درصد	تعداد درصد
AntiHCV(+)	۱۵	۵۷/۶	۲۶ ۴۲/۴
AntiHCV(-)	۴۸	۵۵/۲	۸۷ ۴۴/۸

جدول شماره ۲: توزیع فراوانی مطلق و نسبی بیماران تالاسمی در دو گروه AntiHCV مثبت و منفی بر حسب سن

سن (سال)	کمتر از ۱۰ سال	۱۰-۲۰ سال	جمع
گروه	تعداد	درصد	تعداد درصد
AntiHCV(+)	۱۲	۴۶/۲	۲۶ ۵۳/۸
AntiHCV(-)	۶۴	۷۳/۶	۸۷ ۲۶/۴

(۱۷). موارد مثبت کاذب تست الایزا در نمونه‌های سرمی تاریخ گذشته، سرمهای حاوی روماتوئید فاکتور و یا سایر اتو آنتی بادیها و سرم افراد Risk low مثل اهداء کنندگان خون می‌باشند (۸، ۱۱).

در اقلیت کمی از بیماران مبتلا به هپاتیت C تست الایزا منفی و تشخیص با تعیین RNA ویروس مزبور توسط تکنیک PCR می‌باشد (۸). اگر چه گاهی اوقات با حساس‌ترین تکنیک‌ها نمی‌توان در تمام دوره‌های عفونت، RNA ویروس را تشخیص داد و یک HCV RNA منفی بیانگر آلوده نبودن نمی‌باشد (۱۷). گرچه تعیین RNA ویروس با روش PCR حساس‌ترین تست جهت تشخیص هپاتیت C می‌باشد، به علت تکنیک فوق‌العاده حساس و گران و مشکل، تست روتین جهت استفاده نمی‌باشد (۱۶). لذا نتایج بدست آمده و تأیید شده توسط تست RIBA به دلیل حذف واکنشهای غیر اختصاصی از حساسیت و اختصاصیت بالایی برخوردار

جدول شماره ۳: توزیع فراوانی نسبی و مطلق بیماران تالاسمی در دو گروه AntiHCV مثبت و AntiHCV منفی بر حسب تعداد واحدهای خون دریافتی (۱ واحد=۱۵۰ سی‌سی)

تعداد واحدها	کمتر از ۲-۴	بیش از ۴	جمع
گروه	تعداد درصد	تعداد درصد	تعداد درصد
AntiHCV(+)	۶	۲۳/۱	۲۶ ۷۶/۹
AntiHCV(-)	۴۸	۵۵/۱	۸۷ ۴۲/۵

است (۱۷) و انطباق زیادی با نتایج حاصل از تعیین RNA ویروس C با روش PCR دارد (۳).

نتایج:

۱۱۳ بیمار تالاسمی بیمارستان هاجر شهرکرد از اردیبهشت سال ۱۳۷۷ لغایت شهریور همان سال مورد مطالعه قرار گرفتند. از این تعداد ۶۳ نفر (۵۵/۷٪) مذکر و ۵۰ نفر (۴۴/۳٪) مؤنث بودند. از بین این بیماران ۲۶ نفر AntiHCV مثبت بودند که ۱۵ نفر (۵۷/۶٪) بیمار مذکر و ۱۱ نفر (۴۲/۴٪) بیمار مؤنث، AntiHCV مثبت بودند (جدول شماره ۱).

از ۲۶ نفر AntiHCV مثبت، یک مورد در اثر نارسایی قلبی فوت نمود و از مطالعه خارج شد. لذا ۲۵ بیمار مبتلا به هپاتیت C مجدداً با تست تأییدی RIBA با عنوان عمومی تست Blot مورد بررسی قرار گرفتند که تمام بیماران مزبور تست RIBA نسل سوم آنها مثبت گزارش

جدول شماره ۴: توزیع فراوانی نسبی و مطلق بیماران تالاسمی در دو گروه AntiHCV مثبت و AntiHCV منفی بر حسب افزایش ALT

ALT نرمال	ALT افزایش یافته	جمع
گروه	تعداد درصد	تعداد درصد
AntiHCV(+)	۴	۱۵/۴
AntiHCV(-)	۵۲	۵۹/۸

تست RIBA آنها را تأیید کرد.

در مطالعات مشابه ارقام مختلفی در رابطه با شیوع هپاتیت C گزارش شده است. در مطالعه‌ای که بر روی ۶۱ بیمار تالاسمی به صورت آینده نگر در طول ۴ سال در تایوان و در سال ۱۹۹۶ انجام گرفته شد، از ۶۱ بیمار تالاسمی ۲۶ نفر معادل ۴۲/۶ درصد مبتلا به هپاتیت C بودند (۱۳). در صورتی که در مطالعه ما شیوع هپاتیت C کمتر (۲۳٪) بود. به نظر می‌رسد علت این اختلاف تعداد ترانسفوزیون‌های بیشتر در بیماران تایوانی بوده است بطوری که بیماران آنها هر ۲ الی ۳ هفته خون دریافت می‌کردند در صورتی که بیماران ما ماهانه جهت تزریق خون مراجعه می‌کردند.

در مطالعه دیگری که در ایتالیا در سال ۱۹۹۴ به منظور تعیین شیوع هپاتیت C در بیماران تالاسمی که در نقاط مختلف جهان خون دریافت کرده‌اند انجام شد (۱)، شیوع کلی ۶۰٪ به دست آمد که در مقایسه با رقم به دست آمده از مطالعه ما (۲۳٪) فاصله بسیار دارد.

در مطالعه مذکور، بیشترین بیماران ایتالیایی بوده‌اند و این نشان می‌دهد که کلاً سروپروالانس هپاتیت C در اهداء کنندگان خون در ایتالیا از رقم بالایی برخوردار است (۱). علت سروپروالانس بیشتر این بیماران در مقایسه با بیماران ما شاید این باشد که بیماران آنان قسمت اعظم خون دریافتی خود را زمانی که AntiHCV به طور روتین چک نمی‌شده است دریافت کرده‌اند.

در مطالعه دیگری در کلکته در سال ۱۹۹۱ بر روی بیماران تالاسمی و هموفیلی صورت گرفته است (۲) شیوع هپاتیت C در مقایسه با بیماران ماکتر گزارش شد (به ترتیب ۱۴/۳ درصد در برابر ۲۳٪). به طور کلی طی برآورد کتب مرجع، شیوع هپاتیت C در بیماران تالاسمی در حد ۵۰-۱۰٪ می‌باشد (۱۶) و در مطالعات مختلف ذکر شده نیز این آمار به خوبی تأیید می‌شود (۱۳، ۷، ۲). از نظر سن و میزان دریافت خون و سطح ALT، بین مطالعه ما و سایر مطالعات نتایج متغیری حاصل شد.

شد. لذا شیوع هپاتیت C در جمعیت مورد مطالعه این تحقیق ۲۳٪ برآورد شد. اکثر بیماران مبتلا به هپاتیت C در گروه سنی بالاتر از ۱۰ سال قرار دارند (۱۴) نفر معادل ۵۳/۸٪. در گروه بیماران غیر مبتلا به هپاتیت C فراوانی افراد در گروه سنی کمتر از ۱۰ سال بیشتر است (۶۴ نفر معادل ۷۳/۶٪) (جدول شماره ۲).

با استفاده از "آزمون فیشر" بین فاکتور سن و AntiHCV ارتباط معنی‌داری وجود دارد ($P < 0/01$) و با افزایش سن میزان ابتلاء هپاتیت در بیماران تالاسمی افزایش می‌یابد.

در ۲۶ بیمار تالاسمی مبتلا به هپاتیت C، ۲۰ بیمار (۷۶/۹٪) بیش از ۲ واحد خون در هر بار تزریق استفاده کردند (هر واحد = ۱۵۰ cc) (جدول شماره ۳) و ۵۵/۱ درصد از بیماران تالاسمی غیر مبتلا به هپاتیت C کمتر از ۲ واحد خون دریافت کردند. با استفاده از "آزمون کای دو" و $P < 0/01$ ارتباط معنی‌داری بین تعداد واحد خونه‌های دریافتی و ابتلاء به هپاتیت C به دست آمد. بدین معنی که بیماران مبتلا به هپاتیت C در مقایسه با بیماران غیر مبتلا به هپاتیت C از خون بیشتری استفاده کرده‌اند. از ۲۶ بیمار مبتلا، ۲۲ نفر (۸۴/۶٪) افزایش ALT داشتند. در صورتی که از ۸۷ بیمار تالاسمی غیر مبتلا به هپاتیت C ۳۵ نفر (۴۰/۲٪) ALT افزایش یافته داشتند (جدول شماره ۴). با استفاده از آزمون کای دو و $P < 0/001$ ارتباط معنی‌داری بین افزایش ALT و ابتلاء به هپاتیت C وجود دارد. بدین معنی که بیماران مبتلا به هپاتیت C دارای سطح ALT بالاتری نسبت به بیماران غیر مبتلا دارند.

بحث:

شیوع هپاتیت C در جمعیت مورد مطالعه ما ۲۳ درصد برآورد شد که تشخیص آن با تعیین AntiHCV و رد موارد مثبت کاذب توسط تست RIBA-III بود (۱۷). که هیچکدام از موارد AntiHCV مثبت، مثبت کاذب نبودند و

در مقطع مورد مطالعه، دهندگان خون به طور روتین جهت AntiHCV بررسی می شده‌اند. گرچه درگیری تعداد کمی از بیماران تالاسمی در دو مطالعه اخیر نیز مربوط به قبل از انجام تستهای روتین می باشد.

پیشنهادهای:

- ۱- بیماران تالاسمی که در این تحقیق تست‌های سرولوژیکی آنها منفی گزارش شده است بهتر است ۳-۶ ماه دیگر مجدداً از نظر AntiHCV بررسی شوند. زیرا بین شروع عفونت و تعیین آنتی بادیهای در گردش خون مدت زمانی حدود ۱۲ هفته لازم است (۱).
- ۲- در بیماران تالاسمی مبتلا به هپاتیت C آزمایشات PT و Alb انجام شود. بدین لحاظ که ALT شاخص مناسبی جهت بررسی شدت آسیب کبدی نیست (۱).
- ۳- انجام بیوپسی کبد در بیماران تالاسمی مبتلا به هپاتیت C.
- ۴- در صورت وجود اندیکاسیون، شروع درمان با اینترفرون در بیماران مبتلا توصیه می شود.

تشکر و قدردانی:

مؤلفین مراتب قدردانی خود را از معاونت پژوهشی وزارت بهداشت درمان و آموزش پزشکی و معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد که امکانات مالی جهت این پروژه را فراهم کردند اعلام می دارند.

در مطالعه‌ای که در تایوان صورت گرفته نتایج مشابهی به دست آمده است به طوری که بیماران مبتلا به هپاتیت C از سن بالاتری برخوردار بوده و خون بیشتری دریافت کرده‌اند و میزان ALT در آنها با مقایسه بیماران فاقد هپاتیت بالاتر بوده است (۱۳). گرچه سطح ALT در بیماران مبتلا به هپاتیت مورد مطالعه ما و مطالعه مذکور نسبت به بیماران فاقد هپاتیت بالاتر بود ولی ALT به تنهایی شاخص خوبی جهت تعیین وخامت بیماری نمی باشد و بیوپسی کبد کمک کننده است. چنانچه در بیمارانی که هپاتیت C توسط بیوپسی کبد ثابت شده است، از آنزیمهای کبدی نرمال برخوردار بوده‌اند (۱۱) و بیش از ۵۰٪ اهداء کنندگان خون مبتلا به ویرمی با ویروس C، سطح ALT نرمال داشته‌اند (۱۱).

در مطالعه‌ای که در کلکته در سال ۱۹۹۱ بر روی بیماران تالاسمی و هموفیلی صورت گرفت (۲) ارتباط معنی داری از نظر سن و میزان دریافت خون و ابتلاء به هپاتیت C یافت نشد. بدین معنی که ابتلاء به هپاتیت C از یک سو و سن بیماران و تعداد واحد خون دریافتی از سوی دیگر ارتباط مستقیمی وجود نداشت.

شاید اختلاف بین مطالعه ما و مطالعه مزبور به این علت باشد که دهندگان خون در آن مقطع زمانی، برای AntiHCV به طور روتین چک نمی شدند. لذا ارتباطی بین سن و تعداد دفعات تزریق خون و ابتلاء به هپاتیت C به دست نیامده است. در صورتی که در مطالعه ما و تایوان

References:

- 1- Angelucci E. Antibodies to hepatitis C virus in thalassemia. *Hematologica*, 79(4): 353-5, 1994.
- 2- Bhattacharya DK.; Bhattacharjee S.; De-M.; Lahiri P. Prevalence of hepatitis C in transfusion dependent thalassemics and hemophiliacs. *Indian J Med Res*, 94: 430-2, 1991.
- 3- Chandhary RK.; Andonov A.; Maclean C. Detection of hepatitis virus infection with recombinant immunoblot assay. *J Clin Lab Anal*, 7(3): 164-7, 1993.
- 4- Chang MH.; Lee CY.; Chen DS.; et al. Minimal role of hepatitis C virus infection in childhood liver disease in an area hyper endemic for hepatitis B infection. *J Med Virol*, 40: 322-5, 1993.
- 5- Chang MH.; Ni YH.; Hwang LH.; Lin KH.; et al. Longterm clinical and virologic outcome of primary hepatitis C virus infection in children : a prospective study. *Pediatr Infec Dis J*, 13: 769-73, 1994.
- 6- Choo QL.; Kuo G.; Weiner AJ.; Overby LR.; et al. Isolation of a c-DNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science*, 244: 359-62, 1989.
- 7- De-Montalembert M.; Costagliola DG.; Letrere JJ.; Cornu G.; et al. Prevalence of marker for human immunodeficiency virus type 1 and 2, human T lymphotropic virus type 1, cytomegalovirus, and hepatitis B and C virus in multiply transtused thalassemia patients. *Tranfusion*, 32(6): 509-12, 1992.
- 8-Dienstag JL.; Isselbacher KJ. Acute viral hepatitis. In: Isselbacher KJ.; Braunwald E.; Wilson JD. *Harrison's principles of Internal medicine*. From McGraw Hill Company. New York: USA, 1681-701, 1998.
- 9- Choo QL.; Kuo G.; Alter HJ.; Gitnik GL.; et al. An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human non-A, non-B hepatitis. *Science*, 244: 362-4, 1989.
- 10- Lavine JE.; Bull FG.; Millward-Sadler GH. Acute viral hepatitis. In: Millward-Sadler GH.; Wright R.; Arthur MJP. In: *Wright's liver and biliary diseases: From WB Saunders Company*. London: UK, 737-50, 1992.
- 11- Lemon SM.; Brown EA. Hepatitis C virus. In: Mandell GL.; Douglas RG.; Bennett JE. *Principles and practice of infections diseases: From Churchill Livingstone. Company*. New York: USA, 4th ed. 1477-83, 1995.
- 12- Lin KH.; Lin KS. Allogenic bone marrow transplantation for thalassemia in taiwan: factors associated with graft failure. *Am J Pediatr Hematol Oncol*, 11: 417-23, 1989.
- 13- Ni YH.; Chang MH.; Lin KH.; Chen PJ.; et al. Hepatitis C viral infection in thalassemic children: clinical and molecular studies. *Pediatric Research*, 36(2): 323-8, 1996.
- 14- Ni Yh.; Lin HH.; Chen PJ.; Hsu HY.; et al. Temporal profile of hepatitis C virus antibody and genome in infants born to mothers infected with hepatitis C virus but without human immunodeficiency virus coinfection. *J Hepatol*, 20: 641-5, 1994.
- 15-Ockner RK. Acute viral hepatitis . In: Bennett JC.; Plum F. *Cecil essential of medicine: From WB Saunders Company*. Philadelphia: USA, 329-35, 1997.
- 16- Sherlock S. Virus hepatitis. In: Sherlock S.; Dooley J. *Diseases of liver and biliary system: From Blackwell Scientific Publications*. London: UK, 262-330, 1997.
- 17- Wilber JC. Hepatitis C virus. In: Murray PR.; Baron EJ. *Manual of clinical microbiology*. From ASM Press, Washington. 1050-5, 1996.